

血小板生成调节和人工制备的研究进展

张竞予^{1,2}, 张雨杭^{1,2}, 于兵¹, 陈费¹, 朱海英¹, 胡以平^{1,*}, 汪超^{1,*}

(1. 海军军医大学基础医学院细胞生物学教研室, 上海 200433; 2. 海军军医大学基础医学院学员一大队, 上海 200433)

【摘要】血小板输注对于血小板减少的出血性疾病的治疗意义重大, 然而用于输注的血小板产品受到保质期短、易被污染、捐献者少、存在不同程度免疫反应等多方面因素限制, 无法实现稳定供应。尤其是在严重自然灾害、战时等突发情况下, 血小板储备量极其有限、新鲜制备条件不足, 往往无法充分发挥血小板的效能。因此研发新型人工血小板以及改良血小板生产、输注技术具有重大的民用及军用价值。本文综述了与人工血小板技术相关的血小板生成与调节机制, 及相关生物技术与生物反应器的发展, 以期为后继研究提供参考。

【关键词】血小板; 人工血小板; 干细胞; 生物工程; 再生医学

中图分类号: R331.1+43 文献标志码: A 文章编号: 1004-616X(2021)03-0236-05 doi: 10.3969/j.issn.1004-616x.2021.03.014

血小板源于循环系统中巨核细胞的无核胞质, 通过释放储存在胞内的血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)等细胞因子至受伤部位参与损伤修复和血管生成等过程, 因此是止血、免疫、炎症等方面不可或缺的角色。血小板可以在血液中循环7~10 d, 浓度大概为 $(1\sim3)\times 10^{11}/L$ 。在临床上, 血小板减少症、血小板增多症、特发性血小板减少性紫癜、骨髓增生异常综合征、再生障碍性贫血等疾病与血小板缺陷有关。患者对血小板的需求与日俱增, 而捐献者数量却相形见绌。另外, 血小板输注产品的可用性、有效性是有限的。首先是产品寿命有限, 血小板仅有7~10 d的寿命, 捐献者来源的血小板难以长时间保存; 其次, 输注血小板还存在人类白细胞或血小板抗原引起的免疫排斥反应、细菌或病毒感染等多种潜在风险^[1-2]。

因此开发新型人工血小板及其输注产品以及改良血小板生产、输注技术具有广阔的前景。本文着眼于人工生产血小板的来源和其中多个环节, 结合与之相关的研究进展, 以期为人工血小板的临床转化提供参考。

1 血小板的产生

1.1 巨核系细胞及体内血小板的生成

巨核细胞是数量稀少的多倍体骨髓大细胞, 仅占有核细胞总数的0.02%~0.05%, 是血小板生成的前体细胞, 体内平均每个巨核细胞在其生命周期内能生成约2 000个血小板。

骨髓在巨核细胞和血小板的生成中具有战略性地位。巨核细胞在骨髓中分化成熟, 大体分为以下几个阶段。首先, 造血干细胞分化成骨髓祖细胞, 而后进一步增殖分化成红细胞祖细胞(megakaryocyte erythroid progenitor, MEP), MEP在细胞因子和趋化因子等的作用下发育成红细胞、巨核细胞和单核细胞等多类型细胞的集落形成单位。如早期和晚期红系祖细胞, 即爆发性红细胞集落生成单位(burst forming unit-erythrocyte, BFU-E)和红细胞集落形成单位(colony forming unit-erythrocyte, CFU-E), 并进一步分化成红细胞。巨核细胞系的集落形成单位主要是CD34⁺的早期爆发性巨核细胞(megakaryocyte, MK)集落形成单位(BFU-MK)和巨核细胞集落形成单位(CFU-MK)。BFU-MK增殖速度较快, 并可发育成体积较小的CFU-MK, 增殖后形成二倍体巨核细胞前体细胞(megakaryocyte progenitor, MKP)。MKP仅有DNA复制和发育成熟的能力, 但不具备分裂能力, 免疫学标志为CD34⁺、CD41⁺、CD42⁺、CD61⁺。MKP进行2次核内复制, 于八倍体时期成熟。成熟巨核细胞的分界膜系统(demarcation membrane system, DMS)具有溶酶体、致密颗粒、 α 颗粒等各种类型颗粒^[3], 细胞质纵向伸展即可形成血小板前体。

巨核细胞成熟后, 由骨髓成骨处迁移到血窦处, 在剪切应力等生物循环力的作用下, 在细胞最突出端释放血小板(图1)。

1.2 肺在血小板形成中发挥重要作用并决定体内含量

肺每小时生产约1 000万个血小板。有研究人员将离体培养的鼠巨核细胞注入受体小鼠内, 将肺作为血小板的检测部位。结果显示, 输注巨核细胞后, 新生血小板具有正常的表面标记和生理功能^[4], 释放量增加了近100倍。这显示了肺在巨核

收稿日期: 2020-11-17; 修订日期: 2021-03-01

基金项目: 国家重大科学研究计划(2018YFA0107500); 海军军医大学本科学员创新实践能力孵化基地项目(FH2019011)

作者信息: 张竞予, E-mail: kaciwhale@foxmail.com。*通信作者, 胡以平, E-mail: yphu@smmu.edu.cn; 汪超, E-mail: wangchaosmmu@126.com

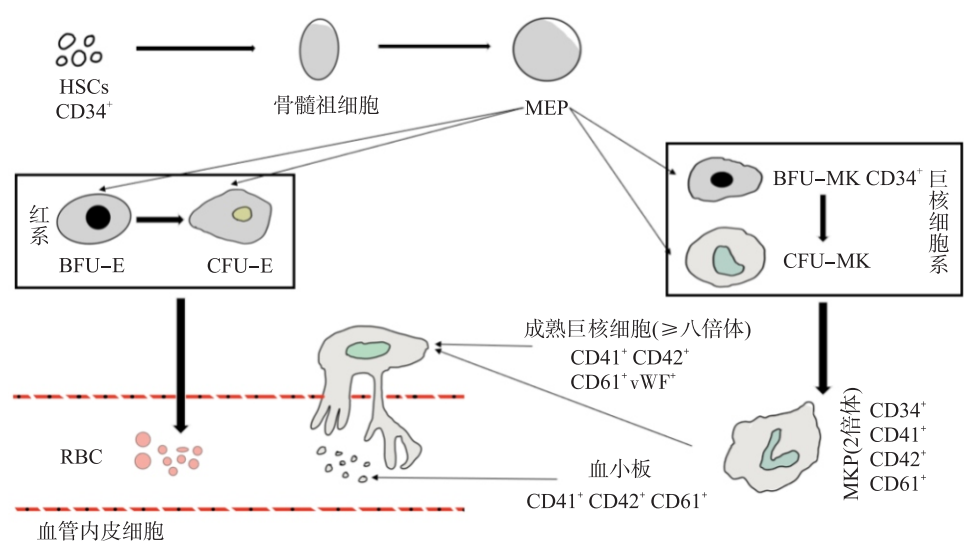


图1 血小板生成示意图

细胞功能活性和血小板形成中的重要地位。

Lefrancais 等^[5]在视频显微镜下观察小鼠肺微循环,发现大量巨核细胞在其中释放血小板。也有研究利用荧光标记技术,观察到巨核细胞释放的血小板主要存在于肺循环中^[6-7]。这些研究为肺是血小板生成的关键调节部位提供了直接证据。

1.3 血小板生成相关调节因子

体内,巨核细胞生成和血小板生成过程由包括细胞因子、生长因子、转录因子、胞外基质分子在内的多种物质调控。血小板生成素(thrombopoietin, TPO)是刺激巨核细胞增殖和分化的主要细胞因子,IL-1、IL-3、IL-6、IL-11、GM-CSF 等对 TPO 刺激巨核细胞的增殖和分化起辅助作用。

然而体外培养条件下,TPO 起抑制前血小板形成作用。其原因是 IFN- γ (interferon- γ)与阻碍 TPO 竞争受体 c-MPL,降低了人造血干细胞和祖细胞(hematopoietic stem and progenitor cells, HSPC)分化形成巨核细胞和进一步生成血小板的能力。Eltrombopag 是一种合成小分子,起激动 c-MPL 的作用,但由于其作用位点与 TPO 不同,故 Eltrombopag 不受 IFN- γ 的竞争作用。此发现不仅解释了其在骨髓衰竭综合征治疗中体现的临床活性,也为体外血小板生成打开了新思路^[8]。除干扰素发挥负调节功能外,TGF- β 、IL-4 也是巨核细胞生成和血小板生成的抑制因子。锌指结构蛋白 GATA-1 在巨核细胞发生的早期发挥作用,核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NF-E2)则在巨核细胞发生的晚期发挥作用。这些转录因子对巨核细胞的增殖、分化及血小板生成的转录调控也起到重要的作用。

2 人工血小板来源

寻找可靠血小板的来源一直是血小板制备技术的研究热点之一,研究已经证实和应用的血小板来源主要可分为细胞与非细胞两类:如可通过对人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)、脂肪干细胞(adipose derived stem cells, ADSCs)、人胚胎干细胞(human embryonic stem

cells, hESC)和人 CD34⁺细胞等的诱导,从而分化分离、生产制备血小板。另一非细胞方案则致力于人工制备技术,主要生产以功能为导向的人工血小板,如多肽复合物、聚合物纳米颗粒等。

血小板的制备在已有可靠来源的基础上,相应的微流模型和生物反应器为成功实现大规模生产提供了重要保障。

2.1 细胞来源

2.1.1 hiPSCs hiPSCs 具有较高的可用性和相对较少的伦理争议,被认为是体外生产血小板的最佳选择^[9-10]。hiPSCs 是巨核细胞的潜在来源。有研究^[11]表明 c-MYC 癌基因的瞬时表达对人皮肤来源的 iPSCs 产生血小板起关键作用。在一系列体外和体内试验中,由 hiPSCs 获得稳定的可扩增的巨核细胞祖细胞系(imortalized megakaryocyte progenitor cell lines, imMKCLs),通过诱导过表达原癌基因 B 细胞特异性鼠白血病病毒插入位点-1(B cell specific maloney murine leukemia virus integration site-1, BMI-1)和原癌基因 BCL-XL,抑制 c-MYC 瞬时表达发现,imMKCLs 可以高效地分化为成熟巨核细胞,并可以产生 CD42b⁺血小板^[12],并且在胶原蛋白支架(一种用于细胞生长的新型支架)帮助下进一步提高血小板的产量和纯度^[13]。

hiPSCs 的优点是可以直接通过基因工程技术制备无人淋巴瘤细胞抗原(human lymphocyte antigen, HLA)的血小板前体,患者在接受此类产品时,产生的免疫应答反应较轻。但也有小鼠体内研究实验表明,与正常巨核细胞相比,诱导多能干细胞来源的巨核细胞(iPSC-MKs)体积更小、倍性更低、半衰期更短、释放的血小板更少^[14-15]。因此,如何优化人诱导多能干细胞的高效能应用值得进一步探索。

2.1.2 ADSCs ADSCs 于脂肪组织中有丰富储存,能分化为脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞。此前 Matsubara 等^[16-17]已经实现体外 3T3-L1 前脂肪细胞系向巨核细胞的诱导分化。Ono-Uruga 等^[18]进一步的研究也表明脂肪组织来源的基质细胞能通过分泌内源性 TPO 诱导巨核细胞生成血小板。最新的研究则通过倒置培养法获得了人脂肪来源的间充质基质/干细胞系



(a human adipose-derived mesenchymal stromal/stem cell line, ASCL), 简化了体外制备人工血小板的操作, 为体外大规模生产血小板提供了选择^[19]。因此, ADSCs 作为非供体依赖型血小板生产的候选细胞具有广阔前景。

2.1.3 hESCs hESCs 具有分化成所有血细胞前体的潜力, 常用于探索生理造血过程, 是制备巨核细胞和血小板的理想“原料”。胚胎干细胞与小鼠骨髓基质细胞系细胞 OP9 共培养, 并加入 TPO、IL-6 和 IL-11, 可诱导胚胎干细胞分化, 从中获得大量功能性巨核细胞。Gaur 团队^[20]利用遗传学方法研发了一个 OP9 基质细胞共培养系统。在该培养系统中, 可以诱导 hESCs 分化成巨核细胞, 并在血小板激动剂的作用下, 产生具有关键功能位点的类血小板。

胚胎干细胞囊技术是一种获得能够释放血小板的巨噬细胞的新方法。在胚胎干细胞囊内, Takayama 等^[21]将 hESCs 与 OP9 细胞共培养, 并为分化提供合适的微环境, 由此获得了大量成熟巨核细胞, 为高效生产血小板打下了坚实基础。

2.1.4 CD34⁺细胞 造血干细胞是分化成巨核细胞的前体细胞, 是体外血小板生产中应用最广泛的细胞, CD34⁺是造血干细胞的分型之一。多项研究证实了利用造血干细胞生产功能性巨核细胞和血小板的可行性。其中, 小分子 616452 可从脐带血 (cord blood, CB) 或骨髓 (bone marrow, BM) 样本中诱导分离出人 CD34⁺细胞, 且 Huang 等^[22]发现小分子 616452 诱导巨核细胞分化的能力比 TPO 更好。小分子抑制剂对 CD34⁺细胞来源巨核细胞的形成与成熟也有一定影响。体外试验显示 Src 激酶抑制剂 (SU6656)、Rho 相关蛋白激酶抑制剂 (Y27632) 和极光 B 蛋白激酶抑制剂 (AZD1152) 等多种小分子能够增强巨核细胞多倍体化程度^[23]。这对体外诱导生成巨核细胞和血小板, 并用于临床输注具有十分积极的作用。

Six 等^[24]对分别来源于脐带血和外周血的 CD34⁺细胞生成巨核细胞和血小板的能力进行了比较。与外周血来源相比, 脐带血来源的 CD34⁺细胞生成的巨核细胞多倍体化程度更低、产生血小板的数量更少, 但细胞表面标志大致相同。近来有学者指出, 与外周血来源的 CD34⁺细胞生成的巨核细胞相比, 白膜层 (抗凝血离心后, 底部的红细胞层与顶部的血浆层之间的一层富含白细胞区域) 来源的细胞产生的血小板更多, 并且经激动剂凝血酶受体激活肽 (thrombin receptor activator peptide, TRAP) 诱导后, 能表达有效活性标志物 CD62P^[25]。这使得 CD34⁺细胞来源的血小板的利用方式更为灵活、应用范围更加宽广。

2.2 非细胞来源

2.2.1 血清蛋白 血清蛋白来源的人工血小板最早可追溯到 2001 年日本庆应和早稻田两所大学的工作。他们利用转基因酵母细胞生产目标血清蛋白首先解决了血清蛋白具有较强免疫原性的问题, 使其在人体内不会发生排异反应; 随后, 再把直径仅有 5 nm 的血清蛋白微粒集中在一起, 制成与正常天然血小板大小相近的团块 (直径为 1~3 μm), 最后在其表面包被糖蛋白, 得到与天然血小板具有相同止血作用的人工血小板。

经过多年研究, 有关血清蛋白一类的功能性血小板替代产品越来越成熟。因其来源充足, 制备过程相对固定、方便, 医药、商业价值不断凸显^[26]。

2.2.2 多肽复合物 为调节血小板异常凝聚, 一种单结构域抗体应运而生, 其结构域可以针对血管性血友病因子 (vWF)、vWF A1 结构域、活化的 vWF 的 A1 结构域、vWF A3 结构域、血小板受体糖蛋白 I b (gp I b) 或胶原蛋白中的任意一种, 并可以与血清清蛋白、血清免疫球蛋白、甲状腺素结合蛋白、转铁蛋白以及纤维蛋白原等血清蛋白片段交联。这种抗体性质的多肽构建体较小、耐受力强、稳定性高, 口服、舌下含服或经鼻、阴道、直肠给药而不丧失活性^[27]。

2.2.3 聚合物粒子 聚合物纳米颗粒 (polymeric nanoparticles, NPs) 既可以作为蛋白质、生长因子和多核苷酸等亲水性大分子的载体, 又能进一步模拟天然血小板的大小、形状, 并可人工再模拟血小板的表面标记, 因而被广泛利用。但限制聚合物粒子应用的最大问题是其硬度比天然血小板大得多。

“聚合物模板”可以解决这一问题。利用位于多层蛋白质和聚合电解质之上的聚合物核心, 通过沉积、分层、交联创建出稳定的人工血小板粒子; 随后, 将坚硬的聚合物颗粒核心溶解, 以达到人工血小板粒子所需要的弹性或柔韧性; 最后, 选用基于在天然血小板或受损的血管表面研究发现的活化蛋白质 (如 vWF、gp I b) 等包被这些粒子, 即得到聚合物粒子衍生而来的人工血小板。这种人工血小板既可以执行典型天然血小板的功能, 也可携带显像剂以辅助判断血管是否受损或作为药物的载体以助力血栓的溶解^[28]。

生物活性物质衍生的聚合物具有良好的生物相容性功能, 近年来也有一定发展。壳聚糖-硫酸软骨素系统就是其中代表之一, 该系统可以使血小板在中后期释放出具有促进造血干细胞增殖和成骨细胞分化活性的血小板裂解物^[29]。

3 用于血小板生产的微流模型和生物反应器的发展——从模仿到创新

对人工血小板的制备, 合适的反应器至关重要。如果能在体外模拟体内血小板生成、释放的环境, 或许能在体内血小板生成过程尚不完全清楚的情况下, 在体外生成数量可观的功能性“血小板”。

Li 等^[30]利用聚对苯二甲酸乙二醇酯 (poly-ethylene terephthalate, PET) 基质捕获鼠类胚胎干细胞, 并使用特定的细胞因子和细胞因子抑制剂诱导造血分化, 这是有关 3D 生物反应器的开创性工作。随后, 在 2009 年, Sullenbarger 等^[31]报道了第二个 3D 模块化生物反应器, 该反应器由带有纤连蛋白和 TPO 的聚酯和水凝胶支架构成, 可特异性地诱导造血祖细胞向巨核细胞分化成熟并生成血小板。由基质胶、vWF、纤维蛋白原、基质细胞衍生生长因子-1α 以及丝状海绵^[32]和透明质酸基水凝胶^[33]等不同基质设计的诸多生物反应器和微流体系统不断涌现, 物理化学联合机制近年来成为在血小板体内发生和体外制备中的研究新热点, 如最新研究表明湍流可促进胰岛素样生长因子结合蛋白 2 (IGFBP2), 巨噬细胞移动抑制因子等从巨核细胞释放, 以促进血小板脱落^[34]。这提示血小板可能只有在物理化学联合机制下才真正显示出其循环和止血的特性, 为今后探索微流模型和生物反应器的相关机制、检验建模效果, 促进人工血小板的商业化生产提供了新的方向和思路。

另一个体外制备血小板的技术方向是制备阶段性、功能性更强的独立体外体系,而并非完全模拟体内微环境。Blin等^[33]此前开发了一种具vWF涂层微柱的生物反应器,其核心——微柱装置具有捕获巨核细胞的作用,并在高于1 800/s的剪切速率作用下,高效生产血小板。Avanzi等^[35-36]则创造性地分两阶段从CD34⁺细胞生产出血小板:首先,在细胞培养系统内将CD34⁺细胞分化为成熟的巨核细胞。然后,将成熟的巨核细胞接种到网状Nanex膜上(孔径2~5 μm),在30~70/s的剪切速率下,可以使每个巨核细胞在体外产生1×10⁶个以上的血小板。该方法虽然得到数量可观的血小板,但其最大的缺陷在于产生的血小板表面可能不具有完整的细胞表面标志物,进而无法保证体外生产的人工血小板的质量。

4 展望

近年来,由于临床对血液的需求增加和健康献血者的数量有限,血液输注产品的相关研究变得越来越重要。人工血小板是一种很有应用前景的临床应用技术。研究人员从不同细胞中得到了具有生物活性的血小板,非细胞来源的人工血小板也在改善特定功能方面独树一帜,与此同时,作为体外生产、输注血小板的容器、载体——生物反应器,近年来也有重要研究进展。

当然,人工血小板技术仍存在诸多问题,如相关生物技术制备的血小板数量少、成熟过程困难、储存不易、难以达到临床应用级别;以功能为导向生产的人工血小板的生物活性、安全性仍有待进一步研究。总之,实现人工血小板的临床应用任重而道远,未来还需对血小板体内、体外的生成调节及人工制备技艺与原理等方面进行更加深入的探索。

参考文献

- [1] NAGELKERKE S Q, PORCELIJN L, GEISSLER J, et al. The association and functional relevance of genetic variation in low- to-medium-affinity Fc-γ receptors with clinical platelet transfusion refractoriness[J]. J Thromb Haemost, 2020, 18(8): 2047-2053.
- [2] STEFELY J A, GAILEY M, KNUDSON M, et al. Retrospective cohort studies of repeat donors reveal donor-dependent variability in the recovery of transfused platelets[J]. Transfusion, 2020, 60(8): 1837-1845.
- [3] NURHAYATI R W, OJIMA Y, TAYA M. Recent developments in *ex vivo* platelet production[J]. Cytotechnology, 2016, 68(6): 2211-2221.
- [4] POTTS K S, SARGEANT T J, MARKHAM J F, et al. A lineage of diploid platelet-forming cells precedes polyploid megakaryocyte formation in the mouse embryo[J]. Blood, 2014, 124(17): 2725-2729.
- [5] LEFRANÇAIS E, ORTIZ-MUÑOZ G, CAUDRILLIER A, et al. The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors[J]. Nature, 2017, 544(7648): 105-109.
- [6] LOONEY M R. The incomparable platelet: holy alveoli[J]. Blood, 2018, 132(11): 1088-1089.
- [7] LOONEY M R, HEADLEY M B. Live imaging of the pulmonary immune environment[J]. Cell Immunol, 2020, 350: 103862.
- [8] ALVARADO L J, HUNTSMAN H D, CHENG H, et al. Eltrombopag maintains human hematopoietic stem and progenitor cells under inflammatory conditions mediated by IFN-γ[J]. Blood, 2019, 133(19): 2043-2055.
- [9] ETO K. Platelets using iPS cell technology; large scale manufacturing[J]. J Stem Cells Regen Med, 2019, 15(2): 52.
- [10] HANSEN M, VON LINDERN M, VAN DEN AKKER E, et al. Human-induced pluripotent stem cell-derived blood products: state of the art and future directions[J]. FEBS Lett, 2019, 593(23): 3288-3303.
- [11] TAKAYAMA N, NISHIMURA S, NAKAMURA S, et al. Transient activation of c-MYC expression is critical for efficient platelet generation from human induced pluripotent stem cells[J]. J Exp Med, 2010, 207(13): 2817-2830.
- [12] NAKAMURA S, TAKAYAMA N, HIRATA S, et al. Expandable megakaryocyte cell lines enable clinically applicable generation of platelets from human induced pluripotent stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2014, 14(4): 535-548.
- [13] SHEPHERD J H, HOWARD D, WALLER A K, et al. Structurally graduated collagen scaffolds applied to the *ex vivo* generation of platelets from human pluripotent stem cell-derived megakaryocytes: Enhancing production and purity[J]. Biomaterials, 2018, 182: 135-144.
- [14] BLUTEAU O, LANGLOIS T, RIVERA-MUNOZ P, et al. Developmental changes in human megakaryopoiesis[J]. J Thromb Haemost, 2013, 11(9): 1730-1741.
- [15] POTTS K S, SARGEANT T J, MARKHAM J F, et al. A lineage of diploid platelet-forming cells precedes polyploid megakaryocyte formation in the mouse embryo[J]. Blood, 2014, 124(17): 2725-2729.
- [16] MATSUBARA Y, SAITO E, SUZUKI H, et al. Generation of megakaryocytes and platelets from human subcutaneous adipose tissues[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 378(4): 716-720.
- [17] MATSUBARA Y, SUZUKI H, IKEDA Y, et al. Generation of megakaryocytes and platelets from preadipocyte cell line 3T3-L1, but not the parent cell line 3T3, *in vitro*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 402(4): 796-800.
- [18] ONO-URUGA Y, TOZAWA K, HORIUCHI T, et al. Human adipose tissue-derived stromal cells can differentiate into megakaryocytes and platelets by secreting endogenous thrombopoietin[J]. J Thromb Haemost, 2016, 14(6): 1285-1297.
- [19] TOZAWA K, ONO-URUGA Y, YAZAWA M, et al. Megakaryocytes and platelets from a novel human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell line[J]. Blood, 2019, 133(7): 633-643.
- [20] GAUR M, KAMATA T, WANG S, et al. Megakaryocytes derived from human embryonic stem cells: a genetically tractable system to study megakaryocytopoiesis and integrin function[J]. J Thromb Haemost, 2006, 4(2): 436-442.
- [21] TAKAYAMA N, NISHIKI H, USUI J, et al. Generation of functional platelets from human embryonic stem cells *in vitro* via ES-sacs, VEGF-promoted structures that concentrate hematopoietic progenitors[J]. Blood, 2008, 111(11): 5298-5306.
- [22] HUANG N, LOU M, LIU H, et al. Identification of a potent small molecule capable of regulating polyploidization, megakaryocyte maturation, and platelet production[J]. J Hematol Oncol, 2016, 9(1): 136.
- [23] JAROCHA D, VO K K, LYDE R B, et al. Enhancing functional platelet



- release *in vivo* from *in vitro*-grown megakaryocytes using small molecule inhibitors[J]. Blood Adv, 2018, 2(6): 597–606.
- [24] SIX K R, SICOT G, DEVLIOO R, et al. A comparison of haematopoietic stem cells from umbilical cord blood and peripheral blood for platelet production in a microfluidic device[J]. Vox Sang, 2019, 114(4): 330–339.
- [25] MARINI I, RIGONI F, ZLAMAL J, et al. Blood donor-derived buffy coat to produce platelets *in vitro*[J]. Vox Sang, 2020, 115(1): 94–102.
- [26] 索伦·斯特芬森, 格拉尔德·贝斯特, 盖伊·赫尔曼斯, 等. 结合聚集蛋白聚糖的免疫球蛋白: CN110997716A[P]. 2020-04-10.
- [27] 卡伦·西莱恩克. 治疗性多肽, 其同源物、其片段及其在调节血小板介导的聚集方面的应用: CN101412759[P]. 2009-04-22.
- [28] 卢信彤, 关秀茹. 血小板及其替代物输注的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(15): 3012–3016.
- [29] SANTO V E, GOMES M E, MANO J F, et al. Chitosan-chondroitin sulphate nanoparticles for controlled delivery of platelet lysates in bone regenerative medicine[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2012, 6(Suppl 3): s47–s59.
- [30] LI Y, KNISS D A, LASKY L C, et al. Culturing and differentiation of murine embryonic stem cells in a three-dimensional fibrous matrix[J]. Cytotechnology, 2003, 41(1): 23–35.
- [31] SULLENBARGER B, BAHNG J H, GRUNER R, et al. Prolonged continuous *in vitro* human platelet production using three-dimensional scaffolds[J]. Exp Hematol, 2009, 37(1): 101–110.
- [32] DI BUDUO C A, WRAY L S, TOZZI L, et al. Programmable 3D silk bone marrow niche for platelet generation *ex vivo* and modeling of megakaryopoiesis pathologies[J]. Blood, 2015, 125(14): 2254–2264.
- [33] BLIN A, LE GOFF A, MAGNIEZ A, et al. Microfluidic model of the platelet-generating organ: beyond bone marrow biomimetics[J]. Sci Rep, 2016, 6: 21700.
- [34] ITO Y, NAKAMURA S, SUGIMOTO N, et al. Turbulence activates platelet biogenesis to enable clinical scale *ex vivo* production[J]. Cell, 2018, 174(3): 636–648.
- [35] AVANZI M P, OLUWADARA O E, CUSHING M M, et al. A novel bioreactor and culture method drives high yields of platelets from stem cells[J]. Transfusion, 2016, 56(1): 170–178.
- [36] BEAU MITCHELL W, AVANZI M P. Megakaryocyte and platelet production from stem cells: US9574178[P]. 2017-02-21.

(上接第229页)

- 2018, 9(11): 9751–9765.
- [5] DOBRESCU R, PICU C, CARAGHEORGHEOPOL A, et al. Serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) can help identify patients with papillary thyroid cancer at high risk of persistent disease: Value and limitations of a potential marker of neoplasia [J]. Cancer Biomark, 2020, 29(3): 337–346.
- [6] CHEN L, LIN G X, CHEN K H, et al. VEGF promotes migration and invasion by regulating EMT and MMPs in nasopharyngeal carcinoma[J]. J Cancer, 2020, 11(24): 7291–7301.
- [7] AHMED O, AJANI J A, LEE J H. Endoscopic management of esophageal cancer[J]. World J Gastrointest Oncol, 2019, 11(10): 830–841.
- [8] CODIPILLY D C, QIN Y, DAWSEY S M, et al. Screening for esophageal squamous cell carcinoma: recent advances[J]. Gastrointest Endosc, 2018, 88(3): 413–426.
- [9] SPATARO J, ZFASS A M, SCHUBERT M, et al. Early esophageal cancer: a gastroenterologist's disease[J]. Dig Dis Sci, 2019, 64(11): 3048–3058.
- [10] HA H, DEBNATH B, NEAMATI N. Role of the CXCL8–CXCR1/2 axis in cancer and inflammatory diseases[J]. Theranostics, 2017, 7(6): 1543–1588.
- [11] CUI D, ZHAO Y, XU J. Activated CXCL5–CXCR2 axis promotes the migration, invasion and EMT of papillary thyroid carcinoma cells via modulation of β -catenin pathway[J]. Biochimie, 2018, 148: 1–11.
- [12] TANAKA K, YOSHIMURA C, SHIINA T, et al. Generation and characterization of inhibitory antibodies specific to Guinea pig CXCR1 and CXCR2[J]. Monoclon Antib Immunodiagn Immunother, 2017, 36(2): 44–49.
- [13] GAO Y, GUAN Z F, CHEN J Q, et al. CXCL5/CXCR2 axis promotes bladder cancer cell migration and invasion by activating PI3K/AKT-induced upregulation of MMP2/MMP9 [J]. Int J Oncol, 2015, 47(2): 690–700.
- [14] MONDAL S, ADHIKARI N, BANERJEE S, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: a minireview[J]. Eur J Med Chem, 2020, 194: 112260.
- [15] WU M H, TZENG H E, WU C N, et al. Association of matrix metalloproteinase-9 rs3918242 promoter genotypes with colorectal cancer risk[J]. Anticancer Res, 2019, 39(12): 6523–6529.
- [16] CHEN L, LIN G X, CHEN K H, et al. VEGF promotes migration and invasion by regulating EMT and MMPs in nasopharyngeal carcinoma[J]. J Cancer, 2020, 11(24): 7291–7301.